

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Année scolaire 1902-1903. — N° 81

PROPRIÉTÉ ANTICOAGULANTE DE L'EXTRAIT AQUEUX

DE

TÊTE DE SANGSUE

NOUVELLE MÉTHODE

DE

DOSAGE EN POIDS DES GLOBULES

HUMIDES DU SANG A L'ÉTAT PHYSIOLOGIQUE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 26 Décembre 1902

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Charles GOBINOT

Né le 18 Août 1878, à Fontaine-Denis (Marne),
Élève à l'École du Service de Santé militaire.



LYON

A.REY & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4

Décembre 1902



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON
Année scolaire 1902-1903. — N° 81

PROPRIÉTÉ ANTICOAGULANTE DE L'EXTRAIT AQUEUX

DE

TÊTE DE SANGSUE

NOUVELLE MÉTHODE

DE

DOSAGE EN POIDS DES GLOBULES

HUMIDES DU SANG A L'ÉTAT PHYSIOLOGIQUE

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le 26 Décembre 1902

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Charles GOBINOT

Né le 18 Août 1878, à Fontaine-Denis (Marne),
Élève à l'École du Service de Santé militaire.



LYON

A.REY & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4

—
Décembre 1902

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET. DOYEN,
LACASSAGNE. ASSESSEUR.
CROLAS. QUESTEUR.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. PAULET, CHAUVEAU.

PROFESSEURS

Cliniques médicales	MM. LÉPINE.
	BONDET.
	BARD.
Cliniques chirurgicales	PONCET.
	JABOULAY.
Cliniqueobstétricale et Accouchements	FOCHIER.
Cliniqueophtalmologique	GAYET.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	GAILLETON.
Clinique des maladies mentales	PIERRET.
Clinique des maladies des enfants	WEILL.
Physique médicale	MONOYER.
Chimie médicale et pharmaceutique	HUGOUNENQ.
Chimie organique et Toxicologie	CAZENEUVE.
Matière médicale et Potanique	FLORENCE.
Parasitologie	LORTET.
Anatomie	TESTUT.
Anatomie générale et Histologie	RENAUT.
Physiologie	MORAT.
Pathologie interne	TEISSIER.
Pathologie externe	AUGAGNEUR.
Pathologie et Thérapeutique générales	MAYET.
Anatomie pathologique	TRIPPIER.
Médecine opératoire	POLLOSSON (M.).
Médecine expérimentale et comparée	ARLOING.
Médecine légale	LACASSAGNE.
Hygiène	COURMONT (J.).
Thérapeutique	SOULIER.
Pharmacologie	CROLAS.

CHARGÉS DE COURS COMPLÉMENTAIRES

Clinique des maladies des femmes	MM. POLLOSSON (A.), agréé.
Maladies des voies urinaires	CHANDELUX, —
Maladies des oreilles, du nez et du larynx.	LANNOIS, —
Propédeutique médicale	ROQUE, —
Propédeutique chirurgicale.	ROLLET, —
Propédeutique de gynécologie.	CONDAMIN, —
Anatomie pathologique	DEVIC, —
Physiologie	DOYON, —
Accouchements.	FABRE, —
Botanique.	BEAUVISAGE, —

AGRÉGÉS

MM.	MM.	MM.	MM.
ROUX.	SIRAUD.	BÉRARD.	VILLARD.
COLLET.	DURAND.	SAMBUC.	TIXIER.
BOYER.	PIC.	BORDIER.	FABRE.
BARRAL.	PAVIOT.	COURMONT (P.).	REGAUD.
MOREAU.	NOVE-JOSSERAND	CHATIN.	CAUSSE, ch...
VALLAS.			

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. MAYET, Président; COLLET, Assesseur;

MM. BOYER et TIXIER, Agrégés.

La Faculté de médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

A MON PÈRE ET A MA MÈRE

A mon Président de Thèse

MONSIEUR LE PROFESSEUR MAYET

Chevalier de la Légion d'honneur.
Professeur de Thérapeutique et de Pathologie générales,
Médecin honoraire des Hôpitaux.

Je remercie M. le professeur Mayet de la grande bienveillance avec laquelle il m'a reçu dans son laboratoire; et je lui suis reconnaissant de l'intérêt qu'il m'a témoigné en me donnant à exposer une méthode scientifique d'examen du sang, dont l'allure précise est tout à fait séduisante.

Je n'oublierai pas l'accueil tout d'indulgente bonté qu'il a fait à ce travail, un peu hâtivement terminé, quand il a accepté d'en présider la soutenance.

En quittant Lyon, je regrette vivement d'être venu si tard près de lui et, s'il me le permet, je l'assure ici de mon très respectueux dévouement.

M. le Dr J. Nicolas, pharmacien de 1^{re} classe, licencié ès sciences physiologiques et chimiques, a très obligeamment opéré les dosages rapportés dans les pages qui suivent. Je sais le soin qu'il a mis à les faire. Aussi, je garderai de sa complaisance et de nos courtes relations un bon et très amical souvenir.

PROPRIÉTÉ ANTICOAGULANTE

DE

L'EXTRAIT DE TÊTE DE SANGSUE

I

HISTORIQUE

C'est vers 1884 que J.-B. Haycraft, ayant remarqué la fluidité anormale du liquide sanguin rejeté par les sangsues, constata expérimentalement la présence d'un principe anticoagulant dans la sécrétion buccale de ces animaux. Il fit alors en Angleterre une communication sur la curieuse propriété que possède l'extrait de tête de sangsue officinale de s'opposer à la coagulation du sang en circulation ou extrait des vaisseaux.

En conclusion, il est remarquable, dit-il, que la sangsue a, dans les produits de sa bouche, une substance retardant fortement la prise du sang en caillot, et détruisant le ferment de la coagulation. Les mêmes effets sont obtenus sur le chien et le lapin, et ils cessent quand l'élimination rénale est faite. Il n'y a pas d'action sur le sang des mollusques. Cette substance hâte la rigidité cadavérique et coagule la myosine.

Il trouva que l'alcool fort n'altérerait pas le pouvoir

anticoagulant de cette substance, pas plus que l'ébullition de la solution aqueuse.

Dickinson refit ces expériences et chercha à isoler le principe sans y parvenir. Ses recherches montrèrent que les injections d'extrait de sangsue n'immunisent pas comme celles de peptones.

En 1887, Friedrich Kruger fit des essais infructueux à Dorpat pour préparer le principe actif de l'extrait. Il eut de mauvais résultats.

Schultze confirma, en 1891, les conclusions de ses prédécesseurs. Il s'occupa de l'action sur les globules.

Michelson attribua un pouvoir lymphagogue à l'extrait de sangsue, et peu d'influence sur la pression sanguine.

Plus récemment, les travaux de Ledoux, après ceux de Contejean, ont avancé la question d'une façon capitale. Il a fixé scientifiquement la technique de préparation de l'extrait, de façon à permettre le dosage exact de la substance injectée. Ses conclusions peuvent ainsi se résumer :

L'extrait de sangsue s'oppose à la coagulation *in vitro* et *in vivo*, aux mêmes doses. Cette action dure tant que la substance, dont la présence ne donne d'ailleurs lieu à aucun autre trouble, n'est pas complètement éliminée. Il n'y a pas d'immunité. Il peut y avoir simultanéité d'action entre l'extrait et les peptones. Tous les animaux à sang chaud sont sensibles à l'extrait de tête de sangsue.

Il y a quelque temps, Bosc et Delezenne reprirent ces travaux à Montpellier. Ils ont recherché quelle était l'origine de la propriété anticoagulante. Y a-t-il, comme ils le supposent, une modification des globules blancs, ou une simple excitation des leucocytes ?

Pour répondre aux questions que se sont posées ces auteurs, il faudrait résoudre le problème du mécanisme de la coagulation du sang.

En 1897, Apathy s'occupa de la partie histologique et anatomique de ces recherches et il localisa exactement dans certains organes des hirudinées l'origine du principe actif dénoncé par Haycraft.

A la vérité, de nombreux travaux ont été publiés un peu partout sur les substances anticoagulantes (1). Elles sont multiples à l'heure actuelle et leur mode d'action semble varier à l'infini. Il règne dans la littérature, à ce sujet, un désordre de faits et d'hypothèses vraiment déconcertant, que ces quelques pages n'éclairciront pas. Il ne sera question ici que de l'extrait de sangsue, de ses applications, notamment au dosage des globules du sang, et des suppositions qu'on a faites sur son *modus agendi*.

Origine probable de la substance active de l'extrait de tête de sangsue.

Haycraft, ignorant l'anatomie de la sangsue, reconnut seulement l'inutilité absolue, au point de vue spécial de la partie postérieure de l'animal, et localisa l'origine de

(1) Voir à ce sujet la thèse de V. Merel, n° 31, Montpellier, 1902, et aussi le très important travail de E.-P. Pick et K. Spiro: Ueber gerinnungshemmende Agentien in Organismus höherer Wirbelthiere (in *Zeitschrift für physiologische Chemie* XXXI, 1901, Seite 235).

la substance active dans l'épithélium de la cavité buccale et du pharynx. C'est ce qui l'amena à n'utiliser que le tiers antérieur du corps.

Restait à savoir quels sont, dans la portion céphalique de la sangsue, les éléments anatomiques dont les produits sont anticoagulants.

Le *Traité d'anatomie comparée* de Vogt et Yung, 1888, mentionne, à l'article spécial: Hirudinées, la présence chez ces animaux, entre les faisceaux musculaires néripharyngiens destinés à dilater la cavité pharyngienne, d'amas d'une substance blanchâtre qui, examinée au microscope, se montre constituée par une quantité de petites glandes monocellulaires, les glandes salivaires.

Leuckart, en 1894, signale autour du pharynx des sangsues, l'existence de glandes salivaires.

La physiologie de ces appareils glandulaires élémentaires est-elle bien ce qu'on pourrait imaginer avec les quelques lignes suivantes du professeur Stéphan Apathy, à Kolozwar: « La sécrétion de ces glandes est dissoute par le sang, pendant qu'il passe devant les ouvertures des canaux excréteurs, et elle est entraînée avec lui dans l'intestin, où le sang est rendu par elle incoagulable. »

On croirait même volontiers, à examiner les dissections, que les contractions des muscles en jeu pendant l'aspiration, et dans le système enchevêtré desquels sont réparties les glandes, doivent aider puissamment à l'écoulement du produit de sécrétion. Il y a diminution de pression à l'intérieur du pharynx pendant que l'animal ventouse la plaie, et pression latérale et postérieure sur la glande. Tout semble bien combiné pour que le

produit actif soit excrété et se mêle intimement au sang aspiré. Ce mécanisme serait aussi simple que logiquement adapté à ses fins.

Ces considérations de causes finales ne valent évidemment pas une démonstration des faits. Mais la preuve en semble rapportée avec assez d'autorité par le professeur Apathy dans le *Biologisches Centralblatt*. La sécrétion de ce qu'il nomme les glandes cervicales (Halsdrüsen) serait, pour lui, la source unique de l'extrait actif. « Ces glandes, dit-il, existent sur le tractus intestinal, à partir de 5 millimètres de l'extrémité antérieure, et se retrouvent jusqu'à l'orifice génital mâle. »

Il est très intéressant de connaître son avis définitif sur les parties essentielles à utiliser dans les manipulations.

S'il faut de l'extrait le plus pur possible, on coupe la tête proprement dite, c'est-à-dire en moyenne 5 millimètres du corps, soit la région de la ventouse, et on la jette. Puis on donne un coup de ciseaux à 5 millimètres devant l'orifice sexuel mâle, et on utilise le morceau antérieur d'environ 10 à 12 millimètres ainsi obtenu. Le reste est jeté.

Si l'extrait peut être préparé un peu moins pur, il sera inutile de détacher la tête. On utilisera donc 18 à 20 millimètres chez les animaux moyens de 8 à 10 centimètres de long.

Il conclut enfin que toutes les espèces, à tous les âges et dans tous les moments de l'année, affamées ou rassasiées, sont bonnes pour la préparation de l'extrait de tête de sangsue.

II

PRÉPARATION DE L'EXTRAIT DE TÊTE DE SANGSUE

Tous les auteurs qui ont opéré avec cette substance ont dit quelques mots sur la façon dont ils l'obtenaient.

Mais il semble bien que, jusqu'à Contejean, la technique de la préparation soit restée très imprécise.

En 1894, il publia son procédé: 50 têtes de sangsues sont traitées par l'alcool absolu, deux jours. Coupées, séchées, elles sont mises macérer dans 100 centimètres cubes d'eau salée à 7 pour 1000 et chloroformée. On agite souvent et on filtre le produit douze heures après. On peut l'employer de suite ou le garder huit jours.

Ledoux fit quelque chose de beaucoup plus minutieux.

Il laisse huit jours les têtes dans un alcool absolu renouvelé. Séchées (au CaCl_2), ces préparations peuvent se garder indéfiniment, dit-il. On infuse le produit sec avec de l'eau distillée, à froid d'abord, puis au bain-marie, et on filtre. Après addition de 6 pour 1000 de NaCl , on peut injecter.

Il prépare aussi de l'extrait sec, en épuisant l'infusé au bain-marie. La poudre noire verdâtre obtenue, dissoute à chaud dans un sérum physiologique, sera injectée

quand on voudra, après un temps de conservation indéfini à l'état de poudre.

Cent sangsues donnent 75 centigrammes d'extrait sec.

Poursuivant la purification chimique de l'extrait, Ledoux isola un produit qu'il appelle hémophiline, et qui n'est pas encore le principe actif complètement pur.

Voici comment fut préparé l'extrait au laboratoire de pathologie générale.

50 têtes de sangsues vigoureuses et vivantes sont coupées, l'animal rampant, à 3 cm. 5 ou 4 centimètres de l'extrémité. Jetées dans de l'alcool absolu, changé de vingt-quatre heures en vingt-quatre heures, pendant trois jours, elles en sont retirées assez dures pour être coupées en petits morceaux très menus. On les sèche à l'air ou à la machine pneumatique. Finalement, on les triture dans un mortier (1). Le produit obtenu est mis en contact avec 10 centimètres cubes d'eau salée à 8 pour 1000 et chloroformée (2). De temps en temps, on agite et on place, pendant les dernières heures, le flacon dans l'étuve à 30 degrés. Quarante-huit heures après, le produit filtré peut être injecté.

Il suffit de 2 centimètres cubes de solution par kilogramme d'animal pour obtenir un effet actif sur le sang pendant plusieurs heures. Le liquide d'injection sera stérilisé au bain-marie dans le flacon à large goulot où

(1) Il est préférable et plus pratique de se servir d'un moulin à poivre.

(2) Après quelques essais, le chloroforme a été supprimé. Il semble n'avoir qu'une action conservatrice. Il vaudrait mieux aussi n'ajouter le NaCl qu'après infusion, car à sa faveur se dissolvent des produits étrangers non actifs.

on le prendra. Mais cette précaution n'est pas d'absolue nécessité.

La liqueur obtenue est noirâtre et, quoi qu'on fasse pour l'éclaircir, ce résultat est impossible à atteindre. Elle contient certainement des impuretés de macération du tissu conjonctif interglandulaire et de tous les organes étrangers introduits inutilement dans la préparation. Quoique fixés à l'alcool, ces matériaux laissent dans le produit trace de leur passage.

Le sang de la bête, celui qu'elle digérait, souillent l'extrait. Il est bien évidemment impossible de l'isoler anatomiquement. Il faudrait pouvoir l'obtenir chimiquement pur, isoler la substance active d'une façon absolue.

III

EXPÉRIENCES SUR LES PROPRIÉTÉS ET NOTAMMENT SUR L'ACTION ANTICOAGULANTES DE L'EXTRAIT DE TÊTE DE SANGSUE

Il est inutile de rappeler les travaux de Haycraft et de ses successeurs immédiats.

En 1890, Heidenhain injecta de l'extrait dans le torrent circulatoire d'animaux, chez qui il remarqua tout de suite après, un écoulement plus considérable de la lymphe recueillie par une fistule du canal thoracique. Cette hyperproduction variait, suivant les doses injectées, entre 2,1 et 15. La lymphe s'écoule d'abord rose, puis blanche. Au début, elle perd sa coagulabilité, pour la recouvrer au fur et à mesure que la sécrétion devient moins exagérée. Il trouva aussi que le résidu sec des liquides sanguin et lymphatique augmente sous l'influence de l'extrait. Tous les chiffres qui basent ces propositions sont hors de proportion avec ceux qui représentent des variations physiologiques normales, et se retrouvent avec une persistance qu'on ne remarque pas chez ceux-ci.

Des recherches vraiment intéressantes ont été communiquées au XI^e Congrès international de médecine à Rome (1893-1894). Le professeur Sahli exposa ses expé-

riences sur cobayes, dans lesquelles, alors que, par divers procédés, les animaux témoins avaient contracté des thromboses vérifiées à l'autopsie, on voyait, au contraire, les animaux injectés d'extrait ne pas faire de caillots, sous l'influence des mêmes causes productrices de coagulations.

Contejean, en 1894, donna son procédé de préparation et vérifia les propriétés de l'extrait de sangsue; il dit que son injection ne produit ni narcose, ni diarrhée, et que le sérum de sang à la sangsue agit comme l'extrait.

Auguste Ledoux (1895) fit une très remarquable étude sur la question et démontra que la durée de l'incoagulabilité du sang est proportionnelle aux doses d'extrait injectées; que les prises faites dans chaque série de recherches donnent des échantillons d'autant plus longtemps incoagulables qu'ils ont été prélevés à des moments plus rapprochés du temps de l'injection. Toutefois, la première saignée ne saurait raisonnablement se faire moins de quatre minutes après que l'extrait est introduit dans la circulation. Il constata l'absence d'action de l'extrait sur la circulation et la respiration, en même temps que la non-immunisation des sujets en expérience, pour de nouvelles injections. Il établit aussi l'inutilité des injections sous-cutanées.

En 1895, Delezenne ayant introduit du produit de tête de sangsue dans la circulation de chiennes en gestation, constata la coagulabilité du sang des fœtus.

Le docteur Rywosch, in *Warschau*, rechercha l'influence de la tête de sangsue sur la glycolyse dans le sang (1897); quelques-unes de ses conclusions seront rapportées à propos de la discussion sur la méthode de

dosage des globules du sang; il note, de plus, du sucre dans l'urine des chiens en expérience.

Bosc et Delezenne publient, en 1897, le fait suivant: une ou deux heures après injection à des chiens d'extrait de tête de sangsue, on leur injecte, sans les tuer, des doses de *Bacillus coli* et de streptocoque, auxquelles succombent les animaux témoins. Ces auteurs font d'intéressantes hypothèses sur le mode d'action de l'extrait.

Des injections intraveineuses concomitantes d'acides divers et d'extrait, furent faites à des chiens par Spiro et Ellinger (1897), qui constatèrent la disparition du pouvoir anticoagulant dans ces conditions. Ils notent le parallélisme entre la coagulabilité et l'incoagulabilité respectives du sang et de la lymphe; la substance anticoagulante leur semble être l'extrait lui-même. Le sérum d'extrait perdrait, d'après eux, son pouvoir anticoagulant à 100 degrés.

Arthus dit que la macération de tête de sangsue agit sur le sang de lapin, de chien, de chat, de mouton, de bœuf, de cheval, de porc et de cobaye.

Phisalix, en 1889, esaya sans résultat d'enrayer l'action coagulante du venin de vipère par l'extrait de sangsue. Il trouva, pour l'extrait conservé à l'air, une activité moins grande que celle d'une solution fraîche. Cette dernière serait plus toxique (??)

Voici le détail des opérations dans lesquelles l'extrait fut expérimenté sur le chien.

Peser, morphiner et endormir l'animal. Découvrir et isoler l'artère fémorale. Dénuder la veine voisine. Faire, dans le bout central de la veine, avec une aiguille de

seringue de Pravaz, ajustée par une tubulure sur une seringue de 20 centimètres cubes, une injection d'extrait. La proportion fut en général de 2 centimètres cubes de solution par kilogramme d'animal.

Cinq ou dix minutes après l'injection, faire à l'artère, chargée et tendue sur deux fils qui servent de pinces, une boutonnière dans laquelle on introduit une canule à bout renflé. Cette canule, mise en place avec un tube de caoutchouc ajusté, on fait la prise de sang dans l'éprouvette graduée, entourée de glace.

Après ligature convenable des vaisseaux intéressés, on suture et on ferme la plaie.

EXPÉRIENCES

I. Juin 1902. — Chien de 17 kg. 800. Injection de 5 centigrammes de morphine. Pas de vomissements. Salivation abondante. L'animal est endormi au chloroforme.

On fait une prise artérielle de sang dans un vase où se trouvait une solution fraîche d'extrait de tête de sangsue, en proportion de 10 centimètres cubes par 50 grammes de sang.

La coagulation se fait au bout de cinq minutes, peu sensiblement retardée.

II. Juin 1902. — Chien de 15 kg. 400. Injection de 4 centigrammes de morphine. Endormi à l'éther.

On injecte dans la veine fémorale, bout central, 23 centimètres cubes d'extrait, à 2 h. 33. On recueille, à 2 h. 55, 200 centimètres cubes de sang qui coagule quinze minutes après.

III. Juillet 1902. — Chien de 15 kilogrammes. Injection de 3 centigrammes de morphine. Endormi à l'éther.

A 10 h. 3, injection de 35 centimètres cubes d'extrait filtré dans la veine fémorale, bout central. Pendant le temps d'injection des 20 premiers centimètres cubes, qui dure une minute, l'animal est pris de convulsions générales. La crise se passe très vite en quarante secondes et s'accompagne de gémissements. Les 15 centimètres cubes complémentaires sont injectés sans incident, lentement. Il y a eu pendant ce temps évacuation de matières diarrhéiques vertes. A 10 h. 25, on place la canule dans l'artère et on tire à l'animal 250 centimètres cubes de sang, qui sont reçus dans une éprouvette graduée placée dans un vase plus grand et entourée d'un manchon de glace.

A 10 h. 45, c'est-à-dire vingt minutes après l'injection, le sang n'était pas coagulé et servit alors aux manipulations de dosage des globules.

Le chien avait repris connaissance lentement. Il réagissait un peu à la voix, mais ne se dressait pas sur ses pattes. Vers midi et demi, il est mort, après avoir eu une diarrhée abondante et verte.

A 2 heures, la rigidité cadavérique est forte et complète. Le foie et le poumon, en place, sont tachetés: il y a des zones foncées et des zones pâles. Pas d'exsudat péricardique. Le cœur droit est plein de sang et mou; le cœur gauche est dur. Le myocarde est pâle. Les gros vaisseaux sont, suivant l'ordre, les artères vides et les veines gorgées. Les poumons ont une coloration inégale; la trachée est pleine de mousse blanche, très aérée, bien homogène, toutes les bulles étant de même grosseur et

régulières. Cette exsudation spumeuse se retrouve loin dans les bronchioles, jusqu'où peuvent aller les ciseaux. A la coupe, on fait sortir du tissu pulmonaire une sérosité rosée. Le poumon nage dans l'eau. Les reins sont congestionnés. La rate est un peu friable, normale. Le foie a des aspects ecchymotiques, porte des zones claires et rouges, qui se répètent dans les coupes. L'estomac ne contient qu'un peu de liquide. La vessie pleine, ponctionnée, donne une urine claire, jaune, sans sucre.

Dans l'éprouvette, il a été laissé du sang, 50 grammes environ, qui, à 6 heures du soir, n'était pas coagulé. Les éléments s'étaient déposés par ordre de densité au fond du récipient. Il était coagulé le lendemain.

IV. Novembre 1902. — Chien de 9 kg. 500. Injection de 5 centigrammes de morphine. Endormi à l'éther. L'extrait a été fait avec des sangsues qui proviennent de Bordeaux. L'injection de 25 centimètres cubes d'extrait, faite en trois reprises sous la peau, n'a pas empêché la coagulation dans les temps normaux. L'animal est mort des suites de la saignée.

V. Novembre 1902. — Chien de 19 kg. 300. On lui donne 6 centigrammes de morphine. Endormi à l'éther.

Injection, à 3 heures, de 35 centimètres cubes d'extrait datant de huit jours. A 3 h. 10, on tire 300 centimètres cubes de sang qu'on recueille à 0 degré. La fluidité est parfaite. Au bout de quinze minutes, le sang contenait deux petits caillots.

On le centrifuge trois quarts d'heure. Au bout de ce temps, on trouve les éprouvettes du centrifugeur bou-

chées par un tampon de fibrine assez claire, à la place du plasma; dessous, les globules avaient commencé à se réunir et n'étaient pas pris en caillot.

VI. Novembre 1902. — Chien de 20 kilogrammes. Injection préalable de 6 centigrammes de morphine. Endormi à l'éther.

On introduit dans le bout central de la veine 40 centimètres cubes d'extrait frais, lentement. La prise de sang faite treize minutes après l'injection, dans les conditions relatées ci-dessus, donne un sang ne contenant pas de caillot au bout de dix minutes.

On centrifuge trois quarts d'heure. A l'ouverture des boîtes, on trouve dans les éprouvettes le même bouchon fibrineux que la dernière fois, avec le même aspect.

VII. Décembre 1902. — Chien de 18 kilogrammes. Injection de 5 centimètres cubes de solution de morphine au 1/10. Endormi à l'éther.

On tire de l'artère 250 grammes de sang dans un vase refroidi à la glace. Ce récipient contenait 25 centigrammes d'oxalate de potasse en poudre. On agite vivement sans faire mousser, de façon à soumettre tout le sang à l'action de l'oxalate. Après cette première saignée, on injecte dans la veine 40 centimètres cubes de solution forte d'extrait de sangsue, représentant une macération de trente têtes d'animal à peu près. Cinq minutes après, on fait une prise de sang dans l'artère avec une autre canule et un autre tube. Au bout de dix minutes, il se formait un caillot qui s'est augmenté peu à peu.

Les manipulations de dosage ont été faites sur le sang oxalaté.

Parmi ces expériences, quelques-unes (III, notamment) sont nettement concluantes et démontrent l'action anticoagulante évidente et forte de l'extrait. Les autres, moins bonnes, ne peuvent, malgré cela, être considérées comme négatives. Il y a toujours eu un retard de la coagulation. Enfin, on pourrait admettre peut-être qu'il y a des organismes réfractaires à l'action de l'extrait, chez qui cette influence se manifeste seulement sous certaines conditions indéterminées (injection plus considérable ou plus concentrée, ou prise de sang plus rapide, etc.).

A côté des recherches *in vivo*, les essais *in vitro* ont donné de curieux résultats.

Haycraft avait commencé ses recherches en mélangeant un peu de la solution anticoagulante à du sang dans des verres de montre.

Ledoux fit des expériences de toute précision. Je rapporterai seulement l'essentiel de ce qui a été observé par les divers auteurs.

Le sang recueilli dans la solution d'extrait est incoagulable en raison directe de la dose du principe actif employé. Comme ce dernier ne s'élimine pas, son action anticoagulante se prolonge. Les éléments figurés du sang se séparent du plasma par dépôt en quelques heures. Dans les coagulations retardées, ils se prennent les derniers, le plasma forme une sorte de couenne translucide au-dessus d'eux. Un peu de plasma à l'extrait de sang-

sue, séparé de ses globules, reste liquide plus longtemps qu'eux.

La solution d'extrait de tête de sangsue semble être un agent antiputrescible. Bosc et Delezenne ne la croient pas antiseptique. Quoi qu'il en soit, on garde longtemps sans qu'ils s'altèrent, des échantillons de sang à la sangsue.

Le plasma pur du sang incoagulable par l'extrait ne coagule pas par dilution, ni par l'acide acétique, ni par l'acide carbonique (Arthus), ni par NaCl , ni par SO^4Na^2 . Il ne contient plus de ferment de la fibrine. Il est incapable d'en fournir. Le fibrin-ferment qu'on y ajoute en quantité suffisante, le zymogène toujours, font apparaître un caillot. Mis en présence de fibrin-ferment, l'extrait de sangsue en détruit une partie. Il y a toujours du fibrinogène dans le sang à l'extrait de sangsue. Le plasma et les globules d'un animal injecté coagulent par dilution à l'eau distillée. Si l'on agit sur le culot globulaire des éprouvettes du centrifugeur avec de l'eau distillée, on obtient un liquide laqué qui donne un coagulum rapide par son addition au plasma.

Voilà l'exposé assez compliqué des faits. Je verrai, dans un paragraphe spécial, quelles théories ont été bâties sur eux, dans quelle mesure ces hypothèses expliquent les constatations et sont, par conséquent, admissibles.

IV

EXAMEN DU SANG EN GÉNÉRAL

Il est important de connaître les variations quantitatives et qualitatives subies par le sang dans ses différentes formes globulaires, sous l'influence des injections d'extrait de tête de sangsue. Les changements dans le nombre des globules rouges et des globules blancs ont été appréciés avec les appareils et suivant la technique générale de Hayem.

Mais pour les évaluations quantitatives des globules blancs, les modifications apportées aux méthodes courantes par un de nos amis, le D^r Jean Bertrand, ont été appliquées. Il les a mentionnées dans son travail sur la *Défense de l'économie contre l'infection Eberthienne* ; nous les rappellerons sommairement. Au lieu de 5 millimètres cubes de sang (1), nous en prenons 10 millimètres cubes en dilution dans 500 millimètres cubes de sérum au violet de gentiane (2).

(1) Les causes d'erreur à éviter en faisant la prise de sang sont rapportées par J. Courmont et V. Montagard, *in* n° 31 de l'*Œuvre médico-chirurgicale*, du 25 novembre 1902. *Les Leucocytes (Technique)*, p. 5.

(2) Formule du sérum :

NaCl.	0,65
SO ⁴ Na ² déshydraté . . .	1 à 1,5
H ² O	100
Violet de gentiane. . . .	Q. S. pour avoir teinte foncée.

Nous faisons une préparation de ce mélange dans la cupule de Hayem; au bout d'un instant, quand les leucocytes colorés se sont déposés sur le fond bien horizontal de ce petit appareil, nous procédons à une centaine de numérations. L'appareil d'optique qui, dans le procédé Hayem remplace l'oculaire quadrillé, projette sur le fond de la cupule l'image réelle d'un carré de $\frac{1}{5}$ de millimètre de côté; et la surplatine mobile ajustée sur le microscope permettant un déplacement progressif et réglé de la cellule dans le même plan que cette image quadrillée, les numérations se succèdent assez rapides. Un calcul très simple donne le chiffre des globules blancs par millimètre cube.

Une seule objection peut être faite ici, qui soit réellement grave. L'image projetée sur le fond de la préparation est-elle bien celle d'un carré de $\frac{1}{5}$ de millimètre de côté ?

L'appareil Hayem étant supposé juste, il suffit que le pas de vis joue un peu et s'use pour que la projection du quadrillage ne soit plus des dimensions voulues. Il peut encore arriver qu'en faisant glisser l'ajustage d'optique pour amener l'image réelle exactement sur le fond de la cupule, on change totalement la valeur de cette image.

Si elle se trouve dans un plan un peu en arrière ou dans un plan un peu en avant de celui où elle a réellement la surface de $\frac{1}{25}$ de millimètre carré, on fait la numération dans un cube plus petit que $\frac{1}{125}$ de millimètre cube de dilution ou plus grand que cette quantité volumétrique. En tout cas, le résultat est toujours différent de ce qu'il devrait être au point de vue absolu. Les

observations faites avec toujours le même dispositif laissé dans des conditions identiques, restent naturellement comparables entre elles, et leur valeur relative n'est pas diminuée. Mais elles sont inutilisables absolument pour d'autres expérimentateurs, tant qu'elles ne seront pas ramenées à l'échelle commune. M. le professeur Mayet a indiqué quelle correction il fallait faire. Il est nécessaire de contrôler l'instrument de numération et en voici le moyen.

La cupule enlevée, on dispose à sa place un micromètre objectif connu, le grossissement du microscope étant celui qui sera employé. Avec ce micromètre objectif, on évalue la dimension des divisions d'un micromètre oculaire qui servira à son tour de repère pour mesurer le côté du carré.

En somme, on se sert d'un micromètre oculaire pour reporter la longueur connue d'un micromètre objectif sur la longueur inconnue du côté du carré.

Cette valeur réelle obtenue, on a de suite la surface du carré et en multipliant par $1/5$ le volume de mélange sur lequel on a opéré.

Voici quelques détails sur la façon dont a été faite la numération qualitative des leucocytes. Il était évidemment beaucoup moins nécessaire de trouver un chiffre exact qu'une indication du changement survenu. Seul, d'ailleurs, un travail d'indication, sans rien d'absolu, était possible. Il faut une approximation des variations leucocytaires, approximation qui reste comparable dans les diverses expériences. Pour obtenir ce résultat, le secret est de faire de très nombreuses numérations concomitantes. C'est uniquement le nombre des numérations

qui peut éteindre l'erreur que comporte d'une façon inmanquable l'imprécision des moyens avec lesquels on les fait. Un pourcentage des globules blancs se fait toujours avec une erreur variable en raison inverse du nombre des globules pourcentés. On imagine que sur une courbe, cette erreur considérable avec les premières ordonnées, lorsqu'il y a peu de numérations, se rapprocherait de plus en plus de la ligne des abscisses à mesure que croîtraient les numérations. Elle s'en rapprocherait jusqu'à atteindre avec un nombre suffisant de préparations un minimum presque tangentiel à cette ligne; puis elle lui resterait parallèle malgré l'accroissement indéfini des numérations. En un mot, cette erreur tend à un minimum d'autant plus grand que les pourcentages sont plus étendus chaque fois et que leur nombre est plus considérable.

Il est difficile et long d'apprécier la valeur de ces variations qui peuvent fausser les résultats. Un travail de M. J. Jolly semble suffisamment précis à ce sujet et, d'après ses conclusions, il ne faut jamais faire de pourcentages sur moins de 300 à 350 globules; ces numérations seront répétées la plupart du temps sur quelques préparations de conditions identiques, en autant de points que possible. L'erreur n'étant ainsi que de 2 à 4 sur les mononucléaires et de 1 à 2 sur les polynucléaires (dans les numérations où on distingue seulement des monos et des polynucléaires), on approche suffisamment des nombres vrais qu'on ne peut obtenir.

La technique employée pour faire les préparations de sang a été celle suivie ordinairement. Etalement instantané et uniforme du sang sur une lamelle, en employant

le dos mousse d'un ténotome: la plaquette de verre étant inclinée, le mouvement de l'instrument assez rapide entraîne la gouttelette de sang vers l'extrémité supérieure de façon à la répartir aussi également que possible et toujours entièrement sur la surface parcourue. La couche de sang devrait, en théorie, être sèche de suite après sa formation. Mais on est obligé de sécher le plus souvent en agitant à l'air, car ce résultat est aussi pénible à atteindre que d'ailleurs d'obtenir des préparations bien uniformes et bien homogènes. Cette difficulté n'est pas pour peu de chose dans les causes d'erreur dont il sera question tout à l'heure. Il faudrait un instrument mécanique et qui, réglé mathématiquement, fasse d'une façon précise, avec la régularité d'un microtome, ce que la main de l'homme fait avec tant d'aléa et d'indécision.

Quand la plaque est séchée, on fixe dans un mélange à parties égales d'alcool et d'éther pendant une demi-heure, ou au chloroforme pendant quelques instants.

Après lavage, la coloration prend un temps variable. Toutes les colorations ont toujours été exécutées dans les conditions les plus semblables de durée et avec les mêmes produits autant que possible. La glycérine hématoxylique a été employée le plus souvent.

Ce fut l'objet d'une application constante d'étaler entièrement chaque fois une gouttelette de sang, de façon que des leucocytes fuyant devant le ténotome qui servait à ces manipulations n'échappent pas au contrôle en quittant la lamelle. Il est certain que la lame de l'instrument en garde quelques-uns; pourtant, il n'y a pas là de quoi beaucoup fausser les résultats.

Les préparations ainsi obtenues sont examinées dans

toutes leurs parties et les numérations portent sur toute leur surface. Cela pour parer aux évaluations erronées que réserve à des méthodes plus rapides la mauvaise et inégale répartition des leucocytes sur une préparation même bien faite et parfaitement réussie en coloration.

La classification adoptée ici est la suivante. Jusqu'à ce qu'on trouve comment les diverses formes sont reliées entre elles et comment elles dépendent les unes des autres, il faudra les étudier et les noter scrupuleusement.

Les globules blancs du chien, si on les considère morphologiquement, se présentent avec les aspects suivants:

1° Les petits lymphocytes, du diamètre d'un globule rouge dont le noyau arrondi se colore très bien par les couleurs basiques et qui ont une couche fort mince de protoplasma périphérique très pur. Ils ont une très grande ressemblance avec ceux de l'homme;

2° Les gros lymphocytes qui prennent aussi fortement le bleu. Ils sont bourrés par leur noyau, avec peu de protoplasma périphérique et atteignent 20 μ de diamètre. Ils ne diffèrent des précédents que par leur taille;

3° Les leucocytes mononucléaires à noyau sphérique, prenant faiblement la couleur. Ils ont un protoplasma abondant qui se teinte encore plus mal que le noyau. Ils n'ont pas de granulations;

4° Les leucocytes mononucléaires à noyau échancré, réniforme, de même présentation générale que les précédents;

5° Les leucocytes à noyau en croissant ou en fer à cheval, sans lobes sphériques.

Ici se placent les *Uebergangsformen* des auteurs allemands, les intermédiaires des français;

6° Les leucocytes à noyau bilobé dont le protoplasma abondant contient deux masses colorées, réunies par un tractus fortement teinté. Souvent on a 2 ou 3 masses qui sont isolées au premier abord. Le professeur Mayet a montré que ces divisions ne sont qu'apparentes et qu'en variant méthodiquement la mise au point, on trouve un pont coloré entre ce qui paraissait constituer deux ou trois noyaux distincts. Il est nécessaire de tenir compte de cet isthme quand on peut le mettre en évidence. Aussi dénombrerons-nous dans les pourcentages les leucocytes trilobés et quadrilobés;

7° Les leucocytes polynucléaires vrais. Ils seraient mieux nommés à noyau polymorphe. Ils contiennent trois variétés de granulations : neutrophiles, acidophiles, basophiles.

Comme en hématologie, chacun se présente avec une classification et des vues particulières, les pourcentages restent difficilement comparables entre eux et la plus grande partie d'un travail fatigant et certainement consciencieux demeure ainsi inutilisable pour autrui.

Voici des chiffres qui figurent la moyenne normale des proportions de ces divers globules chez le chien, d'après les auteurs Tallqvist et Villebrand.

Cellules polynucléaires, 74 à 88 %;

Monos et *Uebergangsformen*, 10 à 15 %;

Lymphocytes, 5 à 10 %.

Le nombre des globules blancs par millimètre cube oscille entre 8.100 et 15.800, et la moyenne est 12.400. Courmont et Montagard donnent de 6.000 à 10.000. Hayem rapporte les chiffres extrêmes de 3.100 à 28.000.

La moyenne faite après 15 numérations dans des con-

ditions normales, sur des chiens de diverses tailles, fixe à 6.500.000 le taux des globules rouges par millimètre cube de sang. Hayem donne presque le même nombre, 6.650.000.

Il y a donc environ 1 globule blanc pour 500 globules rouges.

V

HYPOTHÈSES SUR LE MODE D'ACTION DE L'EXTRAIT DE SANGSUE

Il est permis de penser tout d'abord que l'extrait agit directement sur le sang, soit par sa présence seule, soit en y provoquant des changements de composition du plasma ou des modifications des éléments figurés et de leurs sécrétions; mais, en tout cas, cette action se produit sans intervention étrangère, puisque l'extrait agit sur le sang *in vitro* comme il agit *in vivo*.

D'après les expériences rapportées, on voit que l'extrait de sangsue peut détruire du fibrin-ferment; et aussi qu'il empêche la mise en liberté du zymogène dans le sang. De plus, il semble bien que ce soit en empêchant la destruction globulaire que l'extrait agisse.

En effet, si on détruit des globules de sang à l'extrait, un culot de centrifugation, par exemple, avec de l'eau distillée, du zymogène est mis en liberté; et si on verse ce produit dans le plasma pur et incoagulé du même sang il y a coagulation rapide. De l'eau distillée dans ce plasma n'aurait rien donné. Dans un plasma de mauvaise centrifugation, une coagulation rapide suit la dilution, évidemment par suite de la destruction des globules encore en suspension. C'est ce qui a pu arriver dans les

deux expériences V et VI, où quelques petits glaçons tombés par les trous des bouchons en caoutchouc à l'intérieur des éprouvettes auraient produit une leucolyse funeste à la réussite de l'expérience. Et c'est parce que très peu de zymogène aurait été mis en liberté qu'il s'est produit une coagulation très incomplète d'abord.

Pour conclure quelque chose de ceci, il faut savoir quelles sont les modifications apportées dans la morphologie du sang par l'extrait de sangsue.

Haycraft et Dickinson les déclarent nulles.

Schultze, en 1891, ne constate pas de changement dans le nombre ou la morphologie des globules blancs du sang à l'extrait. Ses procédés d'investigation étaient tout rudimentaires, consistant dans l'établissement du rapport entre la quantité de globules rouges et celle de globules blancs, sans établir jamais le nombre absolu des uns ou des autres dans une certaine quantité de sang.

Colenbrander dit, sans rapporter ses moyens de recherche, que l'extrait conserve les leucocytes.

Feldbausch a fait des expériences plus précises. Il a composé, dans des verres à précipités, des mélanges de 1 partie de sang, par exemple, pour 2 parties d'extrait. Il n'a fait de constats que sur les globules rouges.

Leurs changements en quantité, dit-il, pour des prises faites dans le verre de mélange, à des temps déterminés, donnent une progression décroissante beaucoup moins considérable que les variations constatées sur des prises faites aux mêmes temps dans un verre témoin. Ce verre témoin contenait une dilution (en proportion de 1 pour 2 du même sang dans du sérum physiologique).

Bosc et Delezenne disent que les mouvements amiboïdes

des globules blancs sont activés par l'extrait. Le sang à la sangsue paraît demeurer un tissu vivant plus longtemps que normalement. Ces auteurs pensent que le pouvoir phagocytaire des globules est augmenté et qu'ils empêchent la putréfaction et la coagulation. L'espèce de pouvoir antiputrescible reconnu à l'extrait serait alors indirect, il résulterait de son action sur les leucocytes. Ces derniers auraient des sécrétions bactéricides, antitoxiques peut-être même, puisque, consécutivement à des injections d'extrait, des chiens ont pu supporter sans accidents des inoculations à doses mortelles pour des animaux non préparés.

Faut-il voir un argument favorable à cette hypothèse dans les faits de Spiro et Ellinger au sujet du parallélisme entre l'action de l'extrait sur la lymphe et son action sur le sang? Les deux systèmes lymphatique et sanguin ont tant de points de ressemblance et de contact par le globule blanc qu'on accorderait volontiers une grande valeur démonstrative à ces constatations.

Dans l'expérience III, les pourcentages avant l'injection donnent en moyenne 70 polynucléaires et 30 mononucléaires. Ceux faits après donnent 82 polynucléaires et 18 mononucléaires et lymphocytes.

Dans l'expérience V, la numération des globules blancs la veille donne 7564 leucocytes; au moment de l'opération, on a un chiffre de 8910 et, après l'injection, 6934.

Les hématies donnent, avant l'injection, 5.623.000, et après, 5.400.000 par millimètre cube.

Les plaques donnent, avant l'opération, 83 polynucléaires et 17 mononucléaires. Après, les résultats sont 75 polynucléaires et 25 mononucléaires.

Les autres expériences ne peuvent, par leurs résultats, donner quelque valeur à l'examen du sang. Dans les deux cas où il en est tenu compte, les variations constatées seront aussi bien imputables au fait d'avoir attaché le chien, de l'avoir endormi à l'éther ou de lui avoir fait une saignée, qu'au fait de l'injection. Pourquoi, en effet, choisir cette cause et lui attribuer toute l'influence, sans tenir compte des autres, qui agissent peut-être autant, sinon davantage. La difficulté de savoir ce qui revient à chacune d'elles, l'insuffisance numérique des examens s'opposent à la formation de conclusions précises.

Pourtant, il semble bien que l'extrait de sangsue, sérum physiologique au NaCl, tenant en solution un principe spécial, soit un liquide conservateur des éléments figurés du sang.

Et parce qu'il n'agit pas sur eux d'une façon destructive, ou tout au moins nocive, il ne provoquerait pas de leur part une réaction de défense, produisant l'immunisation, comme cela a lieu pour d'autres anticoagulants.

En tout cas, il semble que, si l'action conservatrice de l'extrait est détruite, si on altère les globules, la coagulation se produit par mise en liberté du principe formateur du fibrin-ferment.

L'incoagulabilité du sang obtenue par l'extrait de sangsue pourrait donc être attribuée avec vraisemblance à la fixation des leucocytes par ce principe.

Cette idée serait appuyée sur les faits de Riwoch, qui constatent l'absence de glycolyse dans le sang à l'extrait.

VI

NOUVELLE MÉTHODE DE DOSAGE EN POIDS DES GLOBULES HUMIDES DU SANG DANS LEUR ÉTAT PHYSIOLOGIQUE

La propriété anticoagulante que possède l'extrait de sangsue offrait un assez grand intérêt, parce qu'elle facilite singulièrement certaines manipulations sur le sang.

Voici celles qui ont été faites au laboratoire de pathologie générale dans le but de doser les globules du sang à l'état physiologique.

Avant de les décrire, je rapporterai brièvement et en négligeant celles qui répètent les précédentes, les recherches principales faites jusqu'ici sur le même sujet.

Toute la difficulté consiste à rendre le sang incoagulable et à isoler les globules du plasma. Le premier de ces desiderata sera rempli successivement par la défibrinisation, et par les anticoagulants (sels chimiques ou produits organiques); le second a été servi d'abord par le repos du sang incoagulable, par la densification des globules (SO_4Na_2), puis enfin par la force centrifuge.

Prévost et Dumas (vers 1820-1825) évaluaient le poids des globules secs, estimant leur eau de constitution négligeable *a priori*. Il va sans dire que cette assertion est fautive et qu'il n'y a pas identité entre le poids des globules secs et celui des globules humides. En ne s'en tenant qu'au chiffre exprimant le poids des globules secs, il pourrait bien aussi être controuvé, parce que, mal lavés, les éléments figurés sont augmentés à la calcination du résidu du plasma interposé et parce que, trop lavés, ils perdent un peu de leurs principes.

M. F. Boudel (1883), *Essai critique et expérimental sur le sang*. Il donne un procédé de Denis qui tient imparfaitement compte de l'eau de constitution. Mais Figuier y pense en retenant sur un filtre les globules du sang au sulfate de soude, qu'il pèse égouttés et humides; il garde en trop le plasma interposé.

En 1850, un travail de C. Schmidt: « *Charakteristik der epidemischen Cholera gegenüber den verwandten Transsudation anormalen* », étend la question. Il semble établi qu'on puisse, en multipliant par 4 les chiffres de Dumas, avoir une appréciation exacte des globules humides, cela d'après des mensurations micrométriques et des pesées.

En 1851, Zimmermann, d'après Berzélius, dose dans le caillot les chlorures qu'il croit étrangers aux globules et particuliers au sérum. Il pense en tirer par relation la valeur du sérum interposé. Il ne tient aucun compte de la fibrine, et le sérum n'est pas le plasma. De plus, il y a des chlorures dans les globules. Cette idée sera reprise souvent.

Vierordt apprécie dans des volumes respectifs connus de plasma et de bouillie cruorique provenant du même sang, la différence des densités; mais, comme il ignore la quantité de plasma retenue dans le cruor, sa technique d'apparence rigoureuse erre complètement.

Le Canu (*Nouvelles recherches chimiques sur le sang*, Paris, 1852) s'est servi des lois de diffusion des solutions salines et a appliqué aux enveloppes des globules les lois générales de l'osmose et de l'exosmose. Stassano et Billon démontraient récemment (*C. r. Acad. sciences*, 1902, CXXIV, 557) que les lois de l'osmose ne sont pas applicables aux globules, que les hématies augmentent de volume dans les solutions hyperisotoniques.

Lehman est plus simple. Il pèse les globules bien exprimés. Cette expression n'en perd-elle pas quelques-uns? Il les pèse de nouveau secs. La différence lui donne l'eau de constitution. Mais le plasma cruorique fausse ses résultats.

Denis (de Commercy), *Mémoire sur le sang*, 1859, propose une méthode compliquée, d'une exposition trop longue pour être rapportée ici.

Parchappe, posant en principe que globules et fibrine ont même hydratation (il estimait que la fibrine est un produit d'altération des globules), assigne aux éléments figurés à l'état physiologique la même proportion d'eau de constitution qu'il trouve à la fibrine humide. Partant d'une proposition très fausse, ses expériences sont tout à fait erronées.

En 1877, Hoppe Seyler (*Analyse chimique*, traduct. de Schlag-

denhauffen, p. 441), donne une méthode restée classique. Il dose la fibrine dans le plasma pur, obtenu en laissant déposer à 0 degré du sang de cheval, et en répétant ce dosage dans le même volume de sang complet, il obtient le rapport :

$$\frac{\text{fibrine du sang}}{\text{fibrine du plasma}}$$

qui, effectué, exprime la quantité de plasma du sang. Le principe directeur de ces manipulations est satisfaisant, les manipulations seules sont aléatoires, la quantité de fibrine étant très faible, et son dosage difficile. L'auteur admet la possibilité d'une très forte erreur. Hoppe Seyler donne une moyenne de 326 de globules pour 673 de plasma.

Il proposa d'autres méthodes sur lesquelles il n'y a rien à dire, sinon qu'elles sont toujours trop approximatives.

Les travaux deviennent maintenant si nombreux qu'il faut renoncer à tout classement et prendre seulement les plus marquants et les plus originaux. Les méthodes et les critiques se succèdent serrées. L'école de Dorpat donne successivement une demi-douzaine de thèses sur la question (notons: Sommer, 1883; Göttchel, 1883; Kuppffer, 1884; Arronet, 1887). Toutes ces méthodes sont d'une complication considérable et comportent toutes de grosses chances d'erreur. Leur application est une difficulté à peu près insurmontable. On opère presque toujours avec du sang défibriné; on s'occupe bien du plasma qui mouille les globules, mais il n'existe pas un procédé pratique d'en tenir compte.

Pourtant, il y a un grand progrès sur les méthodes antérieures. De 1870 à 1880, l'emploi de la force centrifuge commence à se répandre (il semble qu'elle ait débuté officiellement dans les laboratoires vers 1850. L. v. Babo, *Ueber die Anwendung des Centrifugalkraft in chemischen Laboratorium*, Liebigs, ann. 1852, LXXXII, 301). Et presque tous ces auteurs ont obtenu les plasmas et les globules par centrifugation.

Mais avec combien de peine !

En 1883, Göttchel, lavant trois fois les globules avec du sérum, les séparait ensuite trois fois de ce liquide par centrifugation; sa machine marchait à bras d'hommes. Il faisait des séances de trois heures pendant la matinée et trois heures pendant l'après-midi durant deux jours, et la nuit il mettait ses tubes dans la glace. Comme nous sommes loin de ces procédés primitifs et des causes d'erreur que cette lenteur d'exécution faisait naître !

Un détail intéressant à noter est que R. Pribram, Salet et Daremberg centrifugeaient du sang en n'employant pas d'agent d'incoagulabilité. Ils le recevaient directement dans des tubes étroits. Ces tubes fermés étaient fixés horizontalement et entourés de glace

dans une boîte pour être soumis à la centrifuge. Le fait de ne pas posséder un système articulé pour leurs réservoirs nuisait sans doute à leurs résultats, car, la rotation s'arrêtant, la séparation des globules et du plasma devait être en partie détruite.

Il faut, en dernier lieu, citer le procédé de C. Bouchard. Il dose l'albumine en certaine quantité connue de sang coagulé dont la fibrine a été recueillie. Il en trouve P par gramme.

Il dose dans la même quantité de sang additionné d'un poids p d'eau sucrée, un poids P' de fibrine par gramme. On a, x étant le plasma contenu dans les deux prises égales de sang et qui contenait également réparties les albumines dosées $Px = (x+p) P'$ d'où

$$x = \frac{p P'}{P - P'}$$

On connaît le sérum et la fibrine d'un poids connu de sang. Il est facile d'avoir le poids des globules.

A. Gauthier a une façon d'opérer qui se rapproche un peu de celle du professeur Mayet, aussi sera-t-elle sommairement citée dans la discussion des faits.

La méthode employée par M. le professeur Mayet est la suivante:

Le sang est recueilli et centrifugé (1). Lorsqu'on a obtenu le plasma et les globules, on pèse le tout, la tare des éprouvettes dans lesquelles le sang a été centrifugé étant primitivement faite (2). Puis on sépare les deux parties composantes du sang : le plasma qui est recueilli très pur en haut des tubes et les globules qui sont au fond. On pèse chaque prise séparément; appelons A le poids des éléments figurés et B celui de la partie liquide, sans mélange. Avec les globules A, on a le plasma interposé α , et c'est ce qui fausse les résultats donnés par leur pesée directe. Il faut donc connaître exactement le poids α de ce plasma interposé qui est identique à celui recueilli pur

(1) Voir aux addenda la description du centrifugeur.

(2) Cette première pesée est une simple pesée de contrôle; on pourrait s'en dispenser.

dans la portion supérieure des éprouvettes du centrifugeur.

Pour obtenir le terme α sans introduire de corps étrangers dans les matières en expérience, et pour être en même temps sûr de l'égale répartition du corps qui servira d'intermédiaire dans le dosage, on utilise le glucose (1) naturellement contenu dans le plasma sanguin.

Sa proportion est la même dans le poids connu B, de plasma pur, et dans le poids ignoré α , de liquide de mouillage des globules.

Connaissant d'une part la quantité de glucose, a, renfermé dans la masse totale globulaire à la faveur du plasma α qu'elle retient, et sachant d'autre part quelle est la proportion $\frac{b}{B}$ du glucose dans le plasma pur, il est facile d'avoir le poids du plasma ajouté aux globules.

On pose :

$$\frac{b}{B} = \frac{a}{\alpha}$$

Tous les termes sont connus par pesée, excepté α dont on tire la valeur :

$$\alpha = \frac{B \times a}{b}$$

Le poids net et vrai des éléments solides s'obtient dès lors par soustraction de α au premier poids erroné qu'on leur avait attribué. Les globules pèsent $A - \alpha$. C'est ensuite une simple règle de trois pour établir leur proportion en poids pour 1000, dans le sang examiné.

(1) Le terme inexact, mais commode, de « glucose » désignera toujours dans le texte, les « sucres réducteurs » de la liqueur de Fehling, contenus dans le plasma sanguin.

Cette très élégante méthode a une technique relativement facile à suivre.

Voici les détails de son exécution :

L'opération en elle-même se passerait presque de description qui consiste à recueillir le sang d'expérience dans une grande éprouvette graduée, soigneusement asséchée. Elle est placée au milieu d'un vase de plus grand diamètre et de hauteur égale pour y être entourée d'un manchon de glace (1). Quand il est reconnu que le sang est incoagulable, on en reçoit 200 centimètres cubes au moins dans ce récipient préparé. On se sert pour cette prise d'un tube de caoutchouc adapté au tube de verre effilé et renflé dont le bout globuleux est introduit dans l'artère.

Le sang recueilli dans l'expérience III servit aux manipulations dont le détail suit.

Les deux éprouvettes du centrifugeur avaient été pesées vides avec leurs accessoires (bouchon et garnitures de caoutchouc) après avoir été asséchées.

On note que l'éprouvette n° 1 pèse 68 grammes et que l'éprouvette n° 2 pèse 66 gr. 20. Elles sont placées dans des vases et entourées de glace. Puis on les remplit de sang rendu homogène par agitation jusqu'à effleurer le bouchon, sans qu'il reste d'air au-dessous de lui. On les met dans leurs récipients spéciaux qu'on bourre de glace; elles y sont assujetties et maintenues verticales. Après avoir équilibré exactement les deux étuis de cuivre et leur

(1) Le sang est recueilli et centrifugé à 0 degré, parce que dans des faits de Colenbrander, du plasma oxalaté, conservé dix-huit heures à 0 degré sans changer de teneur en sucre, perdit 50 pour 100 de son titre primitif après un séjour de deux heures à 37°5 centigrades.

contenu, on rabat les couvercles. Ils sont fermés et vissés hermétiquement.

On centrifuge une demi-heure.

On arrête le moteur, mais il faut que le centrifugeur proprement dit s'arrête lui-même. Lentement, les boîtes, d'horizontales sont devenues verticales; on les retire en les tenant bien droites. Alors, avec précaution et en les laissant toujours parallèles à elles-mêmes, on retire les deux éprouvettes des fourreaux métalliques et on les essuie. Pesées, elles donnent pour l'éprouvette n° 1 un résultat de 133 grammes et pour l'éprouvette n° 2 un résultat de 131 grammes.

Il est facile d'en conclure qu'on agit en définitive sur 129 gr. 80 de sang. Il y a donc eu 129 gr. 80 de liquide centrifugé.

A l'aide d'une grande pipette, on retire la plus grosse partie possible du plasma de chaque éprouvette (1). Il faut avoir soin toutefois de ne pas approcher le cruor avec le bec de l'instrument aspirateur parce que les globules pénétreraient dans la pipette. Règle générale, il est prudent de se tenir à 1 centimètre au-dessus de la surface de délimitation. Ce qu'on retire de liquide à chaque éprouvette est versé dans une capsule sèche et soigneusement tarée.

Le cruor est évacué par les robinets des éprouvettes dans une capsule asséchée et pesée pour tare. On lave les traces de cruor dans les éprouvettes avec un poids connu d'eau distillée.

(1) Voir aux Addenda, sur la figure, un dispositif qui permet d'opérer avec plus de sécurité et plus facilement cette séparation du plasma et des globules.

En pesant les deux capsules de plasma et de cruor, on aura par différence le poids du plasma, qui, dans le cas présent, est de 31 gr. 15 et celui du cruor qui est de 96 gr. 65.

On procède sans tarder aux manipulations de dosage du glucose.

Les 31 gr. 15 de plasma sont additionnés d'eau et de X gouttes d'acide acétique. On chauffe. Le coagulum est filtré à travers un linge et lavé à quatre reprises avec de l'eau distillée bouillante, jusqu'à ce que les eaux de lavage ne donnent plus rien à l'essai par la liqueur de Fehling. Le filtratum louche obtenu est passé au papier. Ce second liquide totalisé est concentré au bain-marie et se réduit alors à 75 ou 80 centimètres cubes que l'on complète à 93 cc. 45. On titre le glucose.

A cet effet, on prend 5 centimètres cubes de liqueur de Fehling titrée et vérifiée et 2 centimètres cubes de soude auxquels on ajoute 2 centimètres cubes de solution au 1/10 de ferrocyanure de potassium. Tout est mis dans un verre de Bohême avec de l'eau pour faire un volume de 40 à 50 centimètres cubes.

On emplît la burette de Mohr jusqu'au 0 avec la solution de sérum dont on veut titrer le glucose. On prend donc dans les 93 cc. 45 ce qu'il en faut.

Le verre de Bohême étant chauffé, on y fait tomber goutte à goutte la solution à titrer jusqu'à disparition complète de la teinte bleue. On lit alors sur la burette le chiffre 17 centimètres cubes.

Pour réduire les 5 centimètres cubes de liqueur de Fehling, il faut 25 milligrammes de glucose. On peut le vérifier avec une solution titrée de sucre. Donc, ces 25 milli-

grammes de sucre sont dans les 17 centimètres cubes de la solution à titrer; dans les 93 gr. 45 de sérum, il y a :

$$\frac{0,025 \times 93,45}{17}$$

soit 0 gr. 137.742 de glucose. Ces 0 gr. 137.742 expriment la teneur totale en sucre des 31 gr. 15 de plasma primitif, étendus à 93 gr. 45.

Il faut évaluer maintenant le glucose du cruor.

Les 96 gr. 65 de cruor et 100 grammes d'eau distillée de lavage sont chauffés, filtrés, lavés à l'eau bouillante jusqu'à ce que les filtrats ne donnent plus rien par la liqueur cupro-potassique. On filtre au papier et la concentration au bain-marie donnant 80 centimètres cubes de liquide, on ramène à 96 cc. 65, avec de l'eau distillée. Sur ces 96 cc. 65, on prélève 50 centimètres cubes qu'on additionne de 10 centimètres cubes d'une solution de sous-acétate de plomb. On agite. Après filtration, on complète à 100 centimètres cubes à l'aide d'une solution de sulfate de soude au 1/10. Après un dernier filtrage, on procède au titrage comme pour le plasma.

La burette de Mohr indique l'emploi de 25 centimètres cubes de la liqueur cruorique. Donc, 25 centimètres cubes de la solution correspondent à 25 milligrammes de glucose, ce qui, pour la teneur totale en glucose des 96 gr. 65 nous autorise à donner le chiffre de 0 gr. 09665.

Seulement, la solution originelle du titrage ayant été dédoublée, la teneur vraie en sucre du cruor est de 0 gr. 1933.

Ce chiffre 0.1933 exprime donc la teneur totale en sucre des α grammes de plasma qui mouillaient les globules ou qui avaient été pris avec eux dans les tubes du centrifugeur.

Résumons : On sait que 31 gr. 15 (B) de plasma contiennent 0 gr. 13742 (b) de sucre, et que le sucre total du plasma interposé pèse 0 gr. 1933 (a). Quelle est la quantité de plasma (α) retenue par le cruor ?

Cela a été établi tout à l'heure.

Le rapport est d'ailleurs élémentaire à chiffrer :

$$\frac{0,13742}{31,15} = \frac{0,1933}{\alpha}$$

$$\text{D'où : } \alpha = \frac{31,15 \times 0,1933}{0,13742}$$

Soit $\alpha = 43,81$.

Le poids du plasma entraîné dans le cruor est de 43 gr. 81.

Les globules pèsent donc par différence :

$$\frac{96,65}{\text{cruor}} - \frac{43,81}{\text{plasma cruorique}} = \frac{52,84}{\text{globules}}$$

Le plasma en expérience a donc un poids total de :

$$\frac{31,15}{\text{plasma pur}} + \frac{43,81}{\text{plasma du cruor}} = \frac{74,96}{\text{plasma total}}$$

On a opéré sur une masse sanguine d'un poids de :

$$\frac{52,84}{\text{globules}} + \frac{74,96}{\text{plasma}} = \frac{127,80 (1)}{\text{sang complet}}$$

Le poids des globules pour 1000 de sang est par conséquent de :

$$\frac{52,84 \times 1000}{127,80} \text{ soit } 413 \text{ gr. } 45.$$

Les auteurs donnent pour proportion en poids des globules humides contenus dans 1000 grammes de sang, des

(1) Notons que les décantations et les manipulations avec les pipettes ont fait perdre 2 grammes sur le poids initial du sang centrifugé. On peut éviter cette cause d'erreur à la vérité très légère.

évaluations qui varient de 390 à 470 pour 1000. Le plasma compterait pour 6/10 et les globules pour 4/10, dans la masse totale du sang. Mathias Duval note 446 de globules pour 554 de plasma.

Le chiffre de 413 pour 1000 attribué aux éléments figurés du sang dans ce liquide à l'état physiologique est donc très voisin de la moyenne admise couramment.

Une première fois, le dosage des globules avait été fait en volumes, en partant toujours du même principe qui consiste à doser le glucose dans le plasma pur et dans le plasma interposé du cruor pour conclure de la masse de l'un à la masse de l'autre.

Le sang avait été simplement oxalaté.

D'une part, on avait 30 centimètres cubes de plasma et de l'autre 40 centimètres cubes de cruor mouillé de plasma.

La teneur en glucose du plasma était de 0 gr. 08155.

La solution cruorique contenait 0 gr. 057044 de sucre.

Si on appelle x la quantité de plasma interposée dans la masse globulaire et dans laquelle par conséquent le sucre a été dosé et évalué à 0 gr. 057044, il est possible d'écrire :

$$\frac{0,08155}{30} = \frac{0,057044}{x}$$

$$\text{d'où on tire } x = \frac{0,057044 \times 30}{0,08155}$$

soit 20 cc. 98.

Le plasma cruorique a donc un volume de 20 cc. 98, ce qui donne pour les globules nets :

$$40 - 20,98 = 19 \text{ cc. } 02.$$

Ces 19 cc. 02 d'éléments figurés étaient contenus dans 70 centimètres cubes de sang.

Dans 1000 centimètres cubes de sang il y aurait en volume :

$$\frac{19,02 \times 1000}{70}$$

soit 271 cc. 7 de globules.

Il nous est impossible de ramener ces proportions volumétriques à des proportions en poids, puisque nous ignorons les densités du plasma et des globules. Si la hauteur de la colonne globulaire dans l'éprouvette avait été donnée avec celle du sang total, on aurait pu par curiosité fixer à quel volume vrai d'éléments figurés il faut rapporter telle hauteur de cruor obtenue dans les mêmes conditions de centrifugation avec une même quantité de sang analogue.

Avec le sang oxalaté du chien de la VII^e expérience, on a fait une nouvelle application de la méthode et en voici les résultats :

Après une centrifugation de 35 minutes, avec les précautions ordinaires, les éprouvettes furent sorties de leurs récipients. Les éléments du sang étaient nettement séparés, les globules formant un culot dans les deux tiers inférieurs à peu près des éprouvettes, le plasma les surnageant assez clair.

Avec le petit système déjà signalé et présenté sur la gravure à la fin de ce travail, il a été facile de décanter 31 gr. 25 de plasma. Les globules ont été recueillis avec 100 centimètres cubes d'eau; la masse cruorique pesait 93 grammes.

Le poids total du sang en expérience est donc de
 $31,95 + 93 = 124 \text{ gr. } 25.$

D'abord, les 31 gr. 25 de plasma additionnés d'eau distillée et de quelques cristaux de SO^4Na^2 (10 gr.) sont chauffés. L'albumine précipité. On étend avec de l'eau à 150 centimètres cubes. A 50 centimètres cubes de ce liquide nouveau bien agité, on ajoute 10 centimètres cubes de sous-acétate de plomb liquide qui purifie le sérum et on complète à 100 centimètres cubes par une solution de SO^4Na^2 au 1/10. La prise de 50 centimètres cubes est donc dédoublée. On filtre et le filtrat sert au dosage; il faut en employer 61 cc. 2 pour réduire 5 centimètres cubes de liqueur de Fehling. Donc 61 cc. 2 contiennent 0 gr. 025 de glucose. Comme la prise où on a fait le titrage a été dédoublée, cela équivaut à un dosage sur $150 \times 2 = 300$ centimètres cubes.

Dans ces 300 centimètres cubes, il y a

$$\frac{0,025 \times 300}{61,2} = 0 \text{ gr. } 1225 \text{ de glucose.}$$

Ces 0 gr. 1225 sont contenus dans les 31 gr. 25 de plasma.

On avait 93 grammes de cruor. Les albuminoïdes sont précipités par coction, en étendant avec de l'eau. La précipitation obtenue, on étend à 500 centimètres cubes. Prenant 100 centimètres cubes de ce mélange, on y ajoute 10 cc. 3 de sous-acétate de plomb et on complète à 150 centimètres cubes par addition de SO^4Na^2 au 1/10. Cela dilue la prise au 3/2. On filtre. Dans ce qui passe, on dose le sucre. On trouve que pour 1 centimètre cube de liqueur de Fehling, il a fallu 36 cc. 8 du filtratum. Donc, 36 cc. 8 de liqueur cruorique diluée au 3/2 correspondent à 0 gr. 005 de glucose. C'est comme si on

avait titré sur un liquide total de

$$\frac{500 \times 3}{2} = 750 \text{ centimètres cubes}$$

et alors la teneur totale en sucre est de

$$\frac{0,005 \times 750}{36,8} = 0,101.$$

La quantité de glucose 0 gr. 101 est celle qui est contenue dans le cruor, par son plasma interposé.

Résumé : Un poids 31 gr. 25 de plasma contient 0,1225 de glucose. Un poids inconnu α de ce même plasma contient 0,101 de glucose.

Quelle est la valeur de α ?

$$\text{On a} \quad \frac{0,1225}{31,25} = \frac{0,101}{\alpha}$$

$$\text{d'où il vient :} \quad \alpha = \frac{0,101 \times 31,25}{0,1225}$$

soit 25,76 le poids du plasma inter-globulaire.

Le cruor sans plasma pèse donc par différence :

$$93 - 25,76 = 67 \text{ gr. } 24.$$

Le poids net des globules humides, mais non mouillés, contenus dans 1000 de sang sera donc de :

$$\frac{67,24 \times 1000}{124,25} = 541 \text{ gr. } 16$$

On trouve un poids de globules pour 1000 plus considérable que celui admis couramment. Mais cela d'abord n'infirmé ni la rigueur de la méthode, ni la précision des manipulations.

Tout dépend de la dilution plus ou moins grande du sang.

Il y aura toujours des variations suivant l'âge du sujet (Mathias Duval a trouvé chez les fœtus 722 de globules pour 278 de plasma), et les proportions semblent ren-

versées entre la partie liquide et la partie solide du sang des nouveaux nés. L'absorption digestive comme la saignée feront augmenter la proportion de plasma. Au contraire, l'inanition et les maladies comme le choléra concentrent le liquide sanguin. La prise de sang a été faite sur un chien trouvé la veille par la fourrière et auquel on n'a pas donné à manger avant l'expérience.

Ces considérations expliqueront peut-être le résultat en apparence un peu fort de 541 de globules pour 1000 de sang, auquel nous conduit le calcul.

D'ailleurs, des recherches nouvelles seront faites en nombre suffisant pour fixer la moyenne à accepter, ce qu'il est en somme absolument impossible de décider en ce moment.

Aux trois dosages qui précèdent, le hasard a permis d'en joindre un quatrième, fait sur du sang d'homme. On expérimente sur ce dernier moins souvent qu'autrefois, au temps de Denis et des saignées de précaution, par exemple. Aussi est-il douteux qu'on fasse de si tôt un nombre assez respectable de recherches sur le sang normal pour permettre de fixer les idées au sujet de sa teneur en globules.

Celui dont il va être question provenait d'un urémique du service de M. le Dr Mouisset, à l'Hôtel-Dieu. La phlébotomie donna environ 300 grammes de sang noir, recueilli dans une palette propre, où furent déposées successivement pour chaque 100 grammes de sang, des prises de 10 centigrammes d'oxalate. Le mélange intime

était assuré avec un agitateur. Aussitôt le sang recueilli, il fut versé dans un flacon spécialement nettoyé et placé au centre d'une cantine de dimension moyenne, pleine de glace en menus morceaux. C'est ainsi qu'on put le rapporter facilement, dans d'excellentes conditions, au laboratoire.

On en mit presque 60 centimètres cubes bien homogènes dans trois éprouvettes du centrifugeur, soit environ 180 centimètres cubes en tout. La centrifugation dura trois quarts d'heure et fut excellente. Le plasma, assez clair, était séparé du cruor par une surface très plane, à moitié des éprouvettes en moyenne. Une couche blanche de 1 millimètre d'épaisseur couvrait le culot rouge, très nettement distincte.

On retira des trois éprouvettes 74 gr.70 de plasma et 103 gr. 70 de cruor qui, avec 100 grammes d'eau de lavage, donnèrent 203 gr. 70. Les deux liquides furent additionnés d'acétate de plomb en quantité suffisante pour précipiter les albumines, et le liquide cruorique chauffé pour compléter et assurer la réaction.

Ce liquide filtré, le résidu du filtre vidé plusieurs fois dans l'eau bouillante et l'eau passée de nouveau sur le filtre chaque fois, on arrive enfin à un volume de 800 centimètres cubes de solution cruorique. L'excès de plomb avait été neutralisé par SO^2Na^2 . Le plasma filtre lentement et donne, après les manipulations nécessaires, un volume de 400 centimètres cubes.

Il a fallu 95 centimètres cubes de liqueur cruorique pour réduire 2 centimètres cubes de liqueur de Fehling; 10 milligrammes de sucre sont donc contenus dans ces 95 centimètres cubes. Dans les 800 centimètres cubes,

ou dans les 103 gr. 70 de cruor initial, il y avait

$$\frac{0,010 \times 800}{95} = 0,084 \text{ de glucose en tout.}$$

Il a fallu 23 centimètres cubes des 400 centimètres cubes de liquide provenant du plasma pour réduire 4 centimètres cubes de liqueur de Fehling. Il y a donc 20 milligrammes de glucose dans ces 23 centimètres cubes. Soit, pour les 400 centimètres cubes ou les 74 gr. 70 de plasma, $\frac{0,020 \times 400}{23} = 0,347$ de sucre réducteur.

On peut chiffrer:

$$\frac{0,347}{74,70} = \frac{0,084}{\alpha}$$

α étant la quantité de plasma contenue dans le cruor.

On a $\alpha = \frac{74,70 \times 0,084}{0,347}$ soit 18 gr. 08.

Les globules pèsent donc $103,70 - 18,08 = 85$ gr. 62, ceci sur $103,70 + 74,70 = 178$ gr. 40 de sang.

En ramenant à 1000 grammes de sang, on trouve en chiffres ronds:

520 grammes pour 1000, de plasma, et 480 pour 1000, de globules.

Remarque. — Il est inutile dans les manipulations de rectifier le titre de la liqueur de Fehling. On ne veut pas en effet connaître, d'une façon absolue la quantité de sucres réducteurs que contiennent les deux liquides où on les dose. Les chiffres obtenus servent simplement à établir une relation, une proportion numérique exacte entre le plasma pur et le plasma interposé. Il suffira par conséquent que la même liqueur cupro-potassique serve aux opérations sur le cruor et sur le plasma ; son titre importe peu. C'est un facteur commun aux deux membres de l'équation de départ : on pourrait le supprimer.

Discussion. — Cette méthode de dosage des globules du sang offre de grands avantages sur les procédés indirects classiques employés jusqu'ici.

Le procédé de A. Gauthier, par exemple, utilise une solution de chlorure d'ammonium et de sulfate de magnésium et chasse le plasma interglobulaire par cette solution saline qui le remplace. On la dose dans le poids de cruor considéré, et la différence donne le poids des globules. Mais il arrive que la substitution des deux liquides n'est pas complète. De plus, la masse cruorique étant retenue sur un filtre à plusieurs reprises dans les manipulations, il se produit des erreurs. Enfin, l'introduction dans les matériaux de l'expérience de sels minéraux qui prennent contact avec les substances composantes du plasma et des globules peut perturber les résultats.

On pourrait, à la vérité, objecter à l'exactitude du procédé de M. le professeur Mayet, la glycolyse qui se produit toujours dans le sang extrait des vaisseaux et qui viendrait, en détruisant du sucre, fausser les résultats. Car le sucre ne serait pas également détruit dans les deux milieux où on le dose. Le ferment glycolytique, en effet, (Lépine et Barral), étant sécrété par les globules blancs, agirait surtout sur le sucre du plasma contenu dans le cruor. Ainsi se trouverait détruite la relation qui existe entre la teneur en sucre de ce plasma et la teneur en sucre de celui qui sert comme de mesure. On obtiendrait par le calcul un poids de plasma interposé moindre que le poids réel, d'où une erreur en augmentation pour le poids de globules obtenu par différence.

Cette crainte sera complètement dissipée tout à l'heure;

mais on peut toujours mentionner ici que l'activité du ferment glycolytique est surtout manifeste à 40 degrés. Or, l'opération se fait à 0 degré, et il y a pour cette basse température un tel ralentissement des phénomènes vitaux que peut-être les globules blancs ne donnent plus de sécrétion destructrice. De plus, les manipulations sont faites très rapidement. Enfin, on pourrait, à titre comparatif, doser le glucose contenu dans le plasma à mi-centrifugation et à centrifugation complète.

Si le plasma ne perd pas de glucose, peut-on voir augmenter sa teneur en sucre, ce qui, au point de vue du résultat des opérations, ne vaudrait pas mieux ?

Il n'y a pas d'apparence que les hématies contiennent et fournissent du glucose. Aucune analyse n'en fait mention. A voir la très grande pureté du plasma obtenu par centrifugation, il est évident que les globules rouges sont intacts dans le culot au fond des éprouvettes. Il ne s'est certainement rien perdu de leur hémoglobine, la limpidité du liquide qui les surnage en fait la preuve. Les globules blancs contiennent bien du glucogène, mais cette substance, dont l'histologie seule retrouve la trace dans les leucocytes, peut-elle influencer sur les dosages ? Il faudrait que ce glycogène devienne du glucose et soit en assez grande quantité, ce qui n'est guère probable. Les éléments figurés du sang sont bien réunis intacts et sans altération au fond des appareils à centrifuger.

Pour terminer cette revue critique, il faut soulever une dernière question. Le principe injecté influe-t-il sur le sucre du sang ?

En 1897, le Dr Riwosch, à Warschau, a publié les expériences suivantes :

1° Chien de 6 kg. 200.

Teneur en sucre du sang: 0,140.

Injection de 13 centimètres cubes d'extrait, correspondant à 6 têtes de sangsues.

Teneur en sucre du sang une heure après: 0,192.

Variation en plus: 0,052.

Y a-t-il eu hyperproduction ou hypodestruction du glucose dans le sang ?

2° Chien de 6 kg. 500.

Teneur en sucre: 0, 132.

Injection de 14 centimètres cubes d'extrait.

Une heure après, teneur en sucre, 0,182.

Augmentation de glucose: 0,050.

3° Chien de 8 kg. 500.

Teneur en sucre: 0,156.

Extrait: 18 centimètres cubes en injection.

Une heure après, teneur en sucre: 0,215.

Augmentation de: 0,059.

Ces variations ne sont pas dues chez ces animaux au fait d'être fixés sur la table d'opération (faits de Bohm et Hoffmann sur des chats; *Arch. path. und pharm.*, 1878, II, S. 295), car l'auteur a fait des expériences de contrôle à ce sujet qui sont probantes.

Or, en 1892, Colenbrander a expérimenté que la glycolyse dans le sang extrait des vaisseaux est considérablement gênée par l'addition à ce sang d'extrait de sang-sue.

Voilà donc deux ordres de faits. Dans l'organisme, l'extrait augmente la teneur en sucre du sang, et hors de l'organisme, il empêche la destruction de ce sucre dans le sang.

Ceci conduisait à une autre sorte d'expérience. Injection à parties égales de sucre et d'extrait par exemple, au même animal, dans le même moment.

Rivosch le fit.

Chien de 18 kilogrammes, à la diète deux jours avant l'expérience, montre 0,112 de sucre dans le sang. Reçoit en injection 35 grammes de sucre et d'extrait. Deux heures après, 0,280 de glucose dans le sang. C'est une variation en augmentation double de celle que faisaient prévoir proportionnellement les faits précédents.

Si on songe que Brassol et Weyert démontrent qu'une dose de sucre supérieure à celle en question, injectée dans les veines d'un chien, disparaît très vite, de telle sorte que, deux heures après, le sang est normal, la question se juge toute seule. L'extrait s'oppose à la destruction du sucre et, dans les cas déjà rapportés, il n'agit pas autrement.

Il n'y a donc certainement pas de variations de la teneur en sucre pendant les expériences ci-dessus.

Le sang est, à la vérité, un peu dilué par l'injection, puisque sa masse liquide augmente de 20 à 30 centimètres cubes, mais cette plus-value se fait sur au moins (1) 1500 à 2000 centimètres cubes. Comme on en tire environ 200 grammes, la valeur approximative de l'erreur, à chaque prise, est de 5 cc. 19 au plus, soit une erreur proportionnelle de 5/200 ou 1/40. C'est négligeable.

(1) Il est admis que la masse sanguine d'un chien peut être évaluée au 1/13 de son poids, soit environ 75 centimètres cubes de sang par kilogramme d'animal. Mathias Duval donne bien 1/17 pour le chien, au lieu de 1/13, mais cette proportion semble un peu forte.

Alors, il n'y a plus à redouter l'action de l'extrait pour l'exactitude des résultats donnés par la méthode du professeur Mayet. Même, à considérer les faits, loin d'avoir des inconvénients, il ne présente que des avantages.

Il est évident que, si on se sert d'oxalate de potasse pour empêcher la coagulation, on échappe à l'objection de dilution du sang. Mais on introduit des éléments étrangers dans l'expérience; soit; pourtant, on n'ajoute que 25 centigrammes de sel à 250 grammes de sang, et on pourrait réduire cette quantité de beaucoup, puisque Arthus déclare suffisantes des doses de 6 à 7 décigrammes de sels par litre à recueillir. Ce sang est décalcifié (pas complètement, pourtant; Hammarsten, *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, XXII, 333), et les sels de chaux, devenus insolubles, sont précipités du plasma et ajoutés aux globules dans les pesées. Mais leur proportion de 0,145 à 0.200 pour 1000 n'est pas troublante; et il n'est guère admissible qu'aucun des sels du sang précipitables par l'oxalate de potasse donne une erreur sensible. Les variations qui en résulteraient seront certainement inférieures à celles inhérentes aux manipulations, et qu'il faut bien tolérer.

La teneur en sucre du sang oxalaté et maintenu dans la glace fondante ne varie pas (faits déjà rapportés de Colenbrander). Il n'y a donc pas d'erreur par glycolyse.

VII

QUELQUES AUTRES APPLICATIONS POSSIBLES DES PROPRIÉTÉS DE L'EXTRAIT DE SANGSUE

L'utilisation en physiologie des propriétés de l'extrait de tête de sangsue pourra rendre de grands services, puisqu'il est manifestement prouvé par les recherches de Ledoux que cette substance n'agit pas sur le rythme cardiaque, ne modifie presque pas la pression sanguine et la respiration et ne provoque pas de narcose.

Un grand avantage résulte de l'absence d'immunisation.

Les dosages des plasmas obtenus après les injections ne sont plus troublés par des produits chimiques (fluorures, oxalates alcalins ou sulfate de manganèse). Grâce à cela, M. Stassano put étudier la destruction des globules blancs dans le sang pendant l'hypoleucocytose. Les plasmas sont injectables comme les sérums; ils peuvent être aseptiques, si on a recueilli le sang dans l'extrait chauffé à ébullition, ce qui ne l'altère pas.

Toutes les expériences de transfusion (1) dont la coagulabilité du sang était la plus grosse difficulté, deviennent

(1) Conclusion de la thèse de Schultze (aus Berlin) : Dans les transfusions on est fondé, au lieu de défibriner le sang, à le maintenir liquide en l'additionnant d'extrait de sangsue

beaucoup plus faciles, étant supprimée la toxicité trop grande des peptones qu'on employait. Il en est de même pour les circulations artificielles et les circulations croisées. Les hémophilies expérimentales sont réalisables à coup sûr sous l'influence de l'extrait de sangsue.

Les expériences d'anastomoses d'artère à artère et d'artère à veine seront peut-être plus faciles à réaliser en s'aidant des propriétés anticoagulantes de l'extrait de sangsue; de même aussi les greffes d'organes, de glandes vasculaires sanguines.

Il serait possible, avec un centrifugeur convenable, de se rendre compte de la teneur en globules du sang d'un malade. Ceci peut avoir son importance. En soumettant le patient à une saignée (*multa renascentur quae jam cecidere*) et en recevant le sang dans une certaine quantité d'extrait (proportion de 4 à 5 cc. par 50 gr. de sang), on le maintient incoagulé. Il est facile d'y faire tous les dosages indiqués par les besoins de la clinique.

Ledoux, considérant que le principe de l'extrait empêche la formation de la fibrine; que certains microbes semblent, au contraire, être fibrinogènes (pneumocoques, Loeffler), se demande s'il n'y aurait pas lieu de faire des recherches expérimentales. Les productions de fausses membranes seraient-elles empêchées par l'extrait de sangsue ?

S'il était une fois prouvé que l'extrait de sangsue n'est pas toxique pour l'homme et n'agit que par sa présence dans le sang en ne troublant aucunement ce milieu, le manuel opératoire des transfusions serait beaucoup simplifié. On recevrait le sang du sujet qui en cède dans un récipient où seraient 4 à 5 centimètres cubes d'extrait

aseptique par 50 grammes de sang. On transporterait ce liquide près du sujet à transfuser. Alors, on ferait l'opération sans se presser, dans les meilleures conditions possibles de lenteur et de sécurité, pour ne pas causer de grand traumatisme au système circulatoire d'un patient déjà affaibli. Peut-il subsister, dans ces conditions, des craintes de coagulations intraartérielles ou veineuses ? On injecterait sans danger un sang complet.

La chirurgie aurait-elle un agent puissant dans ce principe anticoagulant, si on le produisait pur, non toxique, s'il était maniable avec sécurité et certitude de résultat ?

Que la thérapeutique des maladies cardiaques arrivées à échéance (coagula intraventriculaires et auriculaires) puise une aide salutaire dans les macérations de tête de sangsue, un auteur allemand l'a prétendu, mais il ne faut pas en attendre des résultats sérieux. Comme on obtient seulement une action passagère, les causes persistantes de coagulation ne sauraient être efficacement combattues. L'extrait, en effet, s'élimine assez rapidement par les urines. Il faudrait maintenir le taux en extrait du liquide sanguin à un chiffre constant, ce qui devient irréalisable.

De plus, il n'est pas sans intérêt de dire en terminant que jusqu'ici, l'extrait en injection hypodermique semble n'avoir aucun pouvoir anticoagulant.

CONCLUSIONS

L'extrait de tête de sangsue retarde, d'une façon prolongée, la coagulation du sang *in vitro*. *In vivo* (chez tous les animaux de laboratoire), injecté dans le torrent circulatoire, il rend le sang incoagulable. L'injection sous-cutanée est sans résultat. Il n'y a pas d'immunité après une injection ou plusieurs injections successives. L'action sur la coagulabilité du sang est proportionnelle aux doses employées. Elle passe, peu de temps après l'opération, par un maximum qui se maintient un temps, et ensuite elle décroît assez vite, jusqu'à n'être plus sensible (quand tout l'extrait est éliminé, semble-t-il). Il n'y a pas d'action notable sur la circulation ou la respiration.

L'extrait peut agir faiblement sur certains animaux. Il faudrait peut-être forcer les doses.

L'action de l'extrait sur les globules du sang semble conservatrice. Il ne paraît pas en altérer beaucoup la morphologie ou en faire varier notablement le nombre.

L'extrait de tête de sangsue a permis de faire avec sécurité et facilement le dosage des globules humides du sang, par la méthode de M. le professeur Mayet. Mais

c'est un agent infidèle d'incoagulabilité. L'oxalate de potasse semble plus précis dans son action.

Le procédé de dosage des globules sanguins employé par M. le professeur Mayet a un fondement rationnel exact: des poids connus de cruor et de plasma très pur étant obtenus par centrifugation d'un poids connu aussi de sang, on évalue exactement la quantité du plasma interposé qui mouille les globules, pour conclure, par différence avec le poids initial du cruor, au poids réel de la masse globulaire. L'évaluation du plasma interglobulaire se fait en dosant les sucres réducteurs de la liqueur de Fehling contenus dans la bouillie cruorique, la relation qui existe entre le plasma et ces sucres réducteurs étant donnée par une recherche préliminaire dans le plasma pur.

Après discussion des faits, on peut penser que la technique suivie met suffisamment à l'abri de causes d'erreurs sensibles. Le dosage se fait indifféremment sur le sang oxalaté et sur le sang à la sangsue.

L'extrait de sangsue, d'un emploi peu nocif et facile, en physiologie, pourrait être plus employé, quoique son efficacité paraisse assez irrégulière.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE.

MAYET.

Vu :

POUR LE DOYEN, L'ASSESEUR,
LACASSAGNE.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 16 décembre 1902

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ

G. COMPAYRÉ.

BIBLIOGRAPHIE

- Apathy Stephan* (in Kolozsvár), Die Halsdrüsen von *Hirudo medicinalis* L., mit Rücksicht auf die Gewinnung des gerinnungshemmenden Sekrets. — Biologisches Centralblatt. XVIII. 1898. Seite 218. — Auch in der deutschen Revue des « Ertesitö, Sitzungsberichte der medicin. naturwissenschaft. Sektion des Siebenbürgischen Museumsvereins. — I, Med. Abtheilung Bd XIX (1897, XXII Jahrgang). Seite 37-77.
- Arthur (M.)*, La coagulation du sang, n° 5, in collection « Scientia », p. 38 et 75.
- Bohr (Christian)*, Ueber die Respiration nach Inject. von Pepton und Blutegelinfus, und ueber die Bedeutung einzelner Organe für die Gerinnbarkeit des Blutes. — Separat Abdruck aus Centralblatt. f. Physiol., XI, 1888. Vergl. auch Cap. XIV. — Cit. u. anal. in Maly's Jahresbericht, XVIII, 1888, Seite 75.
- Bosc*, Montpellier médical, 1897, p. 188.
- Bosc et Delzenne*, Montpellier médical, 1897, p. 292.
- Colenbrander*, Ueber die Zersetzung des Zuckers in Blute (Over het verdwijnen van suiker uit het bloed: Nederl. tijdschr. v. Geneeskunde. II, 1892, 433. — Vergl. auch. Ondserzoekingen gedaan in het physiologisch laboratorium der Utrecht'sche Hoogeschool. 4 Reeks, II, 1) — Maly's Jahresbericht., XXII, 1892. Seite 137.
- Contejean*, Sur différents procédés proposés pour rendre le sang incoagulable (Comptes rendus Soc. biol., XLVI, 1894, p. 833).
- Dickinson (W.-L.)*, Note on « leech extract » and its action on blood. The Journal of Physiology by M. Forster, XI, 1889, 556.
- Ehrlich*, Farben analytische Untersuchungen zur Histologie and klinick des Blutes (Berlin, 1891).
- Feldbausch*, Der Einfluss verschiedener Stoffe auf die roten Blutkörperchen und die Bedeutung der letzteren auf die Gerinnung.

- nung. — *Wirchow's Archiv*. CLV, 1899. Versuche mit Blutegelinfus. Seite 147.
- Haycraft (J.-B.)*, On the action of a secretion obtained from the medicinal leech on the coagulation of the blood. — *Proceed. Roy. Soc. Lond.*, XXXVI, 1883-1884, 478. — *Ibid. Archiv. f. exper. Path. und Pharmak.*, XVIII, 1884, 209.
- Heidenhain*, Versuche und Fragen zur Lehre von der Lymphbildung *Archiv. physiol. v. Pflüger*, XLIX, Extract. der Köpfe und Leiber des officinellen Blutegels und des Pferdeegels. Seite 250, § 8.
- Ledoux (A.)*, Recherches comparatives sur les substances qui suspendent la coagulation du sang. — *Ach. de biol.* XIV, juin 1895, p. 68, et in *Travaux du laboratoire de L. Fredericq*, V, 1893-1895, p. 1.
- Mayet*, Moyens à employer pour pratiquer avec exactitude la numération totale des globules du sang, *Lyon médical*, XCVI, 1901, (3-2), n° 5, 33^e année.
- Paldrock (Al.)*, Aus Dorpat. Ueber die Beeinflussung der Gefässe überlebender Organe warmblutiger Thiere durch pharmakologische Agentien. — *Arbeiten des pharmak. Institutes zu Dorpat*. XIII, 1896, p. 64.
- Pekelharing*, Untersuchungen über das Fibrinferment. Amsterdam, 1892, *Deutsche medizal. Wochenschrift*. L., 1892.
- Sahli*, Ueber den Einfluss des intravenos injicirten Blutegelextraktes auf die Thrombenbildung. — *Centralblatt. f. medic. Wissenschaften*, XXII, 1894, 497.
- Schultze (Er.)*, Ueber die Verwendung von Blutegelextract bei der Transfusion des Blutes. Diss. Greifswald, 1891.
- Spiro Karl und Ellinger*, Der Antagonismus gerinnungshemmender und befördernder Stoffe im Blute und die sogenannte Pepton-Immunität. — *Zeitschrift f. physiolog., Chemie*, XXIII, 1897, 121. — *Analys. in Centralblatt. f. Physiol.*, XI, 1897, 738.
- Stassano (H.)*, Démonstration de la désagrégation des leucocytes et de la dissolution de leur contenu dans le plasma sanguin, 16 août 1899, *Académie des sciences*.
- Tallqvist (T. W.)*, *E. A. V. Willebrand*, Zur Morphologie des Blutes des Hundes und des Kaninchens. — Original in *Skand. Arch. f. Physiol.*, X, 1899, 37-52. — *Anal. in Journal physiol. et pathol. génér.*, 1900, 2.
-

ADDENDA

DESCRIPTION DU CENTRIFUGEUR EMPLOYÉ AU LABORATOIRE DE PATHOLOGIE GÉNÉRALE (1)

Le centrifugeur est actionné par une dynamo placée sur une tablette fortement scellée dans un angle de la pièce. De là descend une courroie sans fin qui fait tourner la roue du centrifugeur. Cette dernière met en mouvement un arbre solide, horizontal, tenu par deux tourillons fortement fixés à la charpente métallique de l'appareil.

Cet axe joue à glissement suivant sa direction. Les déplacements sont au plus de 2 à 3 centimètres. Il porte à son extrémité gauche un tronc de cône dont la génératrice est inclinée de 45 degrés à peu près sur l'axe idéal de rotation.

Ce pignon arrive en relation directe avec une pièce identique tenant à un axe vertical. La surface de contact du premier tronc de cône est en cuir dur et solidement ajusté. Cela évite les frottements et les mauvais roulements que donneraient les deux surfaces métalliques. Disons tout de suite que l'axe vertical porte le système

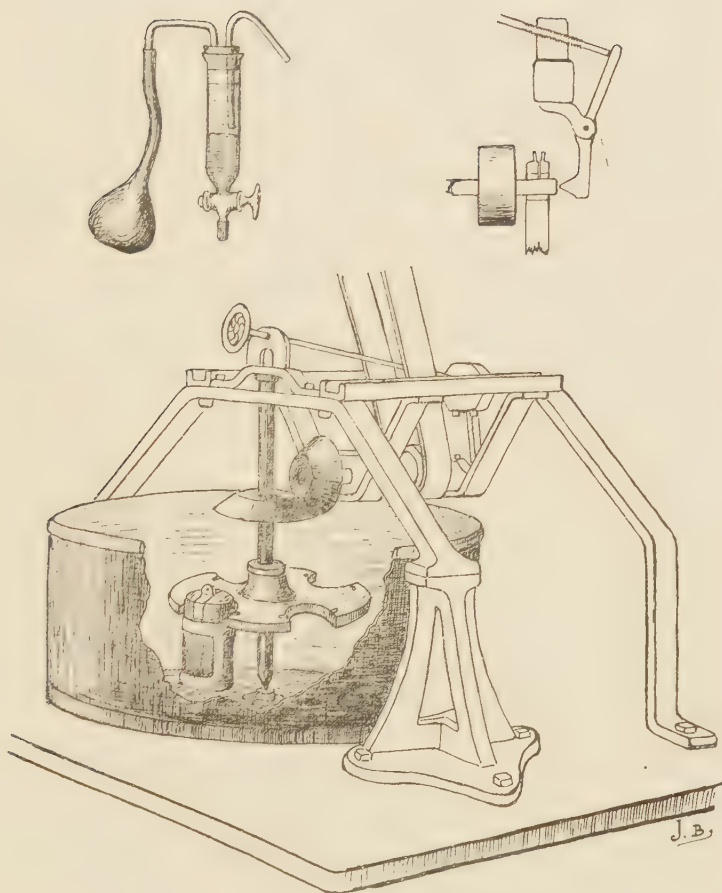
(1) Cet appareil a été décrit par M. le professeur Mayet à la Société nationale de médecine de Lyon (nov. 1902), *Lyon méd.*, 30 novembre 1902.

auquel s'adaptent les étuis contenant les tubes du centrifugeur.

L'axe horizontal est mobile, suivant sa direction, afin qu'on puisse isoler ou associer à volonté les mouvements de rotation du centrifugeur proprement dit et de la dynamo. Il est essentiel, en effet, que les premiers finissent doucement, sans secousses et d'eux-mêmes, tandis que la roue motrice de la dynamo s'arrête net quand on relève la manette où se greffe le courant.

Voici quel est le système d'embrayage employé. L'axe horizontal total est mobile suivant sa direction; il glisse de gauche à droite et de droite à gauche dans les coussinets qui le maintiennent. La grande tige oblique à pas de vis qui surmonte tout l'appareil permet de limiter ce déplacement vers la droite. En effet, l'espèce de marteau sur lequel presse cette tige bascule de telle sorte que sa tête arrête l'extrémité droite de l'axe. En tournant la petite roue qui commande ce mécanisme, on déplace à droite le bras supérieur du levier, la tête refoule la résistance vers la gauche. Ce mouvement amène l'un contre l'autre les deux troncs de cône déjà décrits et permet de les mettre en contact aussi serré qu'on le désire.

Donc, l'axe étant fortement poussé vers la droite, le moteur mis en marche l'actionne seul. On visse la tige oblique supérieure et, quand les deux troncs de cône se touchent, le centrifugeur commence à tourner. On serre assez pour éviter le glissement, pas trop pour éviter les frottements et les résistances inutiles. Avant d'arrêter le moteur, on donne à l'axe horizontal la possibilité de reculer à droite, en détruisant à fond la pression du petit levier. Les deux troncs de cône se séparent d'eux-mêmes:



Eprouvette du centrifugeur avec l'ajustage qui sert à en retirer le plasma pur.

Coupe du système avec lequel on met en marche, on règle et arrête le centrifugeur.

Centrifugeur

La cuve de tôle est déchirée pour montrer un récipient en place.

ils ont toujours tendance à s'écarter l'un de l'autre par la force centrifuge. On peut d'ailleurs sans danger repousser à fond l'axe horizontal avec une tige quelconque. On interrompt le courant, la dynamo s'arrête brusquement, alors que le mouvement du centrifugeur meurt de lui-même.

Pour compléter la description, il faut noter que l'axe vertical porte au-dessous de son embrayage avec l'axe horizontal une forte croix de Malte taillée dans une épaisse plaque de cuivre. Sur les bords opposés de chacune des quatre échancrures se trouvent deux mortaises qui reçoivent les pivots des boîtes à centrifuger. C'est autour de la ligne fictive figurée en joignant ces pivots que les étuis passeront de la verticale à l'horizontale et *vice-versa*. Chaque baie de la pièce de cuivre est faite pour un récipient qui s'y meut librement avec des mouvements les plus doux et les plus réguliers possible.

La bâtisse métallique qui soutient les axes est montée sur une table basse, boulonnée au plancher et fixée aux deux murs d'une encognure sous le moteur. L'espace d'évolution des cylindres qui sont horizontaux pendant la rotation est entouré d'une tôle double, résistante, pour parer aux accidents. Elle a été représentée échancrée sur la figure que mon camarade, le D^r Beyne, a eu la complaisance de faire; je le remercie de son amabilité.

Voici les détails de construction des quatre étuis métalliques qui renferment les éprouvettes où sont les liquides à centrifuger.

Les éprouvettes sont en verre, du modèle précisé par

la gravure. Hauteur 20 centimètres; contenance, 60 centimètres cubes. Tubulées vers le bas, elles sont munies d'un robinet et fermées en haut par un bouchon portant un orifice à tubes. Le bec de l'éprouvette porte une garniture de caoutchouc. Il est désirable que chaque éprouvette soit numérotée, de 1 à 4 dans le cas présent, par exemple, et corresponde à un étui particulier, numéroté aussi.

Les boîtes métalliques sont des cylindres creux, aplatis, offrant par conséquent une coupe ovale. Elles sont en cuivre, hautes de 22 centimètres, contenant 1200 centimètres cubes. Les couvercles s'emboîtent sur elles. Le fond des étuis porte en son milieu une garniture où se place et dans laquelle est retenu le bec des éprouvettes protégé par l'emboutage de caoutchouc. Le couvercle a sur sa face interne une pointe mousse médiane, un mamelon qui, s'enfonçant dans le bouchon perforé de l'éprouvette, la maintient centrale au milieu de la boîte fermée. C'est le manchon ainsi constitué autour des tubes qui reçoit la glace (1).

Sur les couvercles en place, se rabattent deux garnitures de cuivre que serre un solide boulonnage.

L'anse ainsi formée s'appuie latéralement sur un panier

(1) Il y a un grand avantage mécanique à enfermer ainsi les éprouvettes de liquide à centrifuger dans des récipients pleins d'eau et de glace. Grâce à cela, elles supportent, malgré leur verre très mince, une pression énorme qu'on peut prévoir égale à quelques centaines de kilogrammes, en les supposant pleines d'eau pure. Cette force considérable, au lieu de porter seulement sur le verre, s'éparpille sur l'eau qui l'entoure. Elle s'y décompose et s'y épuise, ainsi que sur la résistance du récipient métallique. C'est à la faveur de cette dispersion que les tubes résistent.

sommaire, dont la charpente est en lames de cuivre et la garniture en laine grossière et épaisse. Ce dispositif où les récipients métalliques entrent à frottement dur, arrête la chaleur rayonnante et empêche l'échauffement.

Les deux pivots autour desquels oscilleront les cylindres sont situés à 2 centimètres au-dessous du couvercle, aux extrémités du grand axe de l'ellipse donnée par une coupe horizontale de la boîte à cette hauteur. Des numéros d'ordre permettent de toujours accrocher les récipients aux mêmes échancrures du centrifugeur.

Chaque étui métallique garni de son éprouvette, pleine d'eau, fermé et boulonné, pèse en moyenne 1500 grammes.

Ces quatre cylindres, dont le centre de gravité est à environ 40 centimètres de l'axe vertical idéal de rotation, tournent avec une vitesse de 2000 à 3000 tours à la minute.

